

Title	自由10 旧世界ザルおよび新世界ザルを利用したcDNAサブトラクション法による種特異的発現遺伝子の検索(X.共同利用研究 2.共同利用研究成果)
Author(s)	郷, 康広
Citation	霊長類研究所年報 (2004), 34: 137-138
Issue Date	2004-09-30
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2433/166010">http://hdl.handle.net/2433/166010</a>
Right	
Type	Departmental Bulletin Paper
Textversion	publisher

数では 258 回であったが、立て柱の上まで登るものの、立て柱に挿した弾性ボールのしなりや内側支柱に延びるネットのたわみにより、立て柱の上から柵内へ侵入できた個体は全く認められなかった。カゴ製被覆道具によるカボチャの奪取防止効果は、2 日間で延べ 84 回の試行を繰り返したが、らせん杭で固定するタイプではカゴの浮き上がりがなく成功率は 0%であった。カブサイシンを練り込んだネット被覆によるカボチャの奪取防止効果は実験初日では忌避的な行動が認められたが、2 日目以降は早朝に顔を近づけて奪取しようとする個体が 4 頭認められ、5 日目には歯でネットを噛みちぎってカボチャの奪取に成功した。一方、採食実験の結果、年齢や採食経験にかかわらず嗜好性が低かった品目はハーブであった。

## 自由 8

霊長類の体毛色多様性に関与する分子遺伝学的機構の解明

中山一大（東京大・理）

アグチパターンは毛の長軸方向に沿って暗帯と明帯が繰り返すもので、哺乳類の体毛に普遍的に存在しており、分子レベルではメラノコルチン 1 レセプター遺伝子 (MC1R) とアグチタンパク質遺伝子 (agouti) によって制御されている形質である。マカクでは、カニクイザル種群、トクザル種群に含まれる種の毛には明確なアグチパターンが存在し、全体的な体毛色が明灰色から暗褐色であるのに対して、シシオザル種群ではアグチパターンは明確でなく、体毛色は総じて黒い。このようなマカクにおける体毛色の多様性と MC1R ならびに agouti の多様性との関連性を探るべく、マカク数種について両遺伝子の塩基配列をダイレクトシーケンシング法で決定した。今回の調査では、両遺伝子のコード領域上にはマカクの体毛色多様性に決定的な役割を果たしていると考えられる変異は発見されなかった。しかし、agouti の塩基配列を分子進化学的に解析することによって、トクザル種群、カニクイザル種群では非同義置換率が同義置換率より低いのに対して、シシオザル種群では非同義置換率が同義置換率よりも高くなっていることが明らかになった。シシオザル種群では、明瞭なアグチパターンが喪失したことによって、agouti のコード領域に作用してきた機能的制約が緩和したためと考えられる。

## 自由 10

旧世界ザルおよび新世界ザルを利用した cDNA サブトラクション法による種特異的発現遺伝子の検索

郷 康広（総合研究大学院大・先端科学）

本研究は、種の個別性・特異性の遺伝的基盤を明らかにするために、ヒト・旧世界ザル・新世界ザルの各臓器において種特異的に発現している（もしくは発現していない）遺伝子を探索することを目的とした。

本年度は、方法の確立を行うため、比較的容易に実験材料を手に入れる事ができ、また、ゲノムデータベースおよび発現遺伝子データベースが充実しているヒトおよびマウスを対象として実験を行った。ヒトにおける発現抑制遺伝子および偽遺伝子を探索するために上皮に注目した。ヒト化における体毛消失 (hair loss) の機構を明らかにするために、上皮における発現遺伝子のうち双方で同程度発現しているものを除き (サブトラクトし)、ヒトで発現が抑制されている候補遺伝子を 51 種類同定した。その候補遺伝子を問い合わせ配列としてデータベース検索した結果、全ての遺伝子が、マウスと比較して発現は抑制されているものの、遺伝子として機能を失って (偽遺伝子化) はいなかった。ただし、発現抑制遺伝子の中には、機能未知のノンコード RNA (タンパク質に翻訳されず RNA が遺伝子の最終産物として機能する遺伝子) が多数見つかった。本共同利用研究において方法の確立ができたので、次年度

以降、ヒトにより近縁な旧世界ザルおよび新世界ザルを利用し、ヒト化に至る過程で発現が抑制されているもしくは偽遺伝子化した候補遺伝子を絞り込み、その生物学的・進化的な意味付けを行う。

#### 自由 11

##### MT-V1 単一視覚情報伝達経路の選択的破壊による運動視の阻害と神経再生

久恒辰博・瀬瀬大輔（東京大・院・新領域）

サルを用いた行動学実験により、脳の大まかな領域の機能分担は分かってきたが、領域間を結ぶ個々の神経ネットワークが情報処理の過程においてどのような役割を担っているかは殆ど分かっていない。そこで本研究では、逆行性に投射する神経伝達経路の情報処理における機能の解明を最終的な目標とし、単一の神経情報伝達経路を選択的に破壊する技術の確立を目指した。

実験はまず投射関係が密であり、領域の同定が比較的容易である、一次視覚野（V1）から外側膝状体（LGN）への逆行性投射経路をターゲットとして選択的破壊技術モデルの確立を目指した。まず光応答反応を測定して LGN を同定し、光増感物質であるクロリン e6 を結合させた逆行性輸送物質を LGN に注入した。この複合物質はシナプス末端から取り込まれ、V1 にある細胞体まで逆行性に運ばれる。そして、V1 にレーザー光を照射することにより V1 から LGN へ逆行的に投射している神経細胞のみを選択的に破壊した。

その後脳組織標本を作製して、選択的神経破壊が起こっているか確認を行った。LGN へ逆行性投射する神経細胞群は V1 の第 6 層に存在しており、第 6 層での神経細胞の破壊は確認された。しかし、第 6 層以外にもレーザーによる損傷が見られた。以上の結果から、このモデルによる単一神経情報伝達経路の選択的破壊は可能であるが、照射するレーザー強度などの実験条件の検定が更に必要であると思われる。

#### 自由 12

##### 霊長類における認知的ストレスと免疫・内分泌反応の研究

大平英樹、市川奈穂（名古屋大・院・環境学）、磯和勅子（三重県看護大・看護）

昨年に引き続き、霊長類における認知的ストレスに伴う免疫・内分泌反応を検討するため、本年度は下記の研究を行った。

急性ストレスに関する研究として、ニホンザルに認知的ストレス負荷を課し、そこでの免疫・内分泌動態を検討することを目的として、個体を対象に馴致・認知課題訓練を行い、1 個体はパフォーマンスが実験可能な水準まで達した。加えて血液検体より同定される各種リンパ球サブセットなどの免疫指標の同定法を検討し、確立した。採血のためのベスト着用に関する馴致後、本実験に移行する予定である。

また慢性ストレスの生体への影響を検討するため、ニホンザル 1 個体を対象に上位個体とのケージ距離を操作することで社会的環境ストレスの程度を低度から高度に設定し、各条件における免疫系・内分泌系指標の測定および行動分析を継続的に実施している。ベースライン観測の後、高度ストレス状況に移動後、NK 細胞数の増加、ヘルパー T 細胞の減少傾向という傾向がみられている。今後、中度ストレス状況、低度ストレス状況における各指標の変化を継続的に測定すると共に、内分泌系指標であるコルチゾールと免疫指標の関連性の検討、およびストレス負荷に伴う行動の変化に関する分析を行う。